

Original

Óxido nítrico exhalado e índice predictivo de asma en menores de dos años

Olaia Sardón Prado^{a,b,*}, Eduardo G. Pérez-Yarza^{a,b}, Ane Aldasoro Ruiz^a, Javier Korta Murua^{a,b}, Paula Corcuera Elósegui^a, Javier Mintegui Aramburu^a y José Ignacio Emparanza Knorr^c^a Unidad de Neumología Infantil, Servicio de Pediatría, Osakidetza, Hospital Universitario Donostia, San Sebastián, España^b Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina (U.D. de San Sebastián), UPV/EHU, San Sebastián, España^c Unidad de Epidemiología Clínica (CIBER-ESP), CASPe, Hospital Universitario Donostia, San Sebastián, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 18 de julio de 2010

Aceptado el 2 de noviembre de 2010

On-line el 21 de marzo de 2011

Palabras clave:

Fracción exhalada de óxido nítrico

Índice predictivo de asma

Lactantes

RESUMEN

Introducción: La fracción exhalada del óxido nítrico (FE_{NO}) se considera marcador indirecto de la inflamación eosinofílica de la vía aérea. En niños colaboradores la metodología habitual es mediante respiración única. La imposibilidad de realizarla en niños no colaboradores ha permitido desarrollar la técnica a respiración corriente *on-line* y *off-line*. El objetivo del estudio ha sido analizar la relación entre la FE_{NO} *on-line* a respiraciones múltiples y el índice predictivo de asma (IPA) en niños menores de dos años.

Material y métodos: Estudio observacional y transversal en una muestra consecutiva de niños y niñas entre dos meses y dos años de edad, durante un período de 4 meses. Se determinó la FE_{NO} postprandial *on-line* a respiración corriente con respiraciones múltiples y flujo espiratorio entre 40 y 60 ml/s, mediante analizador de quimioluminiscencia estacionario (CLD 88 sp). Variables cuantitativas: edad, peso, IgE, eosinofilia, FE_{NO}, flujo espiratorio. Variables cualitativas: sexo, dermatitis atópica, rinitis alérgica, alergia alimentaria y medicamentosa, antecedentes familiares de asma y atopia, diagnóstico y tratamiento. Se ha analizado la asociación entre IPA y FE_{NO} mediante test exacto de Fisher y *t* de Student y el grado de acuerdo entre IPA y FE_{NO} mediante Kappa de Cohen. Se ha estudiado la relación entre eosinofilia, IgE, dermatitis atópica y FE_{NO} (test exacto de Fisher y *t* de Student).

Resultados: Cohorte constituida por 38 pacientes. Realizaron las determinaciones con éxito 32 (84,21%) casos. Edad media 10,9 ± 5,06 meses. Los casos con IPA positivo tenían valores de FE_{NO} significativamente superiores a los IPA negativos con grado de acuerdo entre IPA y FE_{NO} de 0,71.

Conclusiones: Existe asociación significativa y un buen grado de acuerdo entre la FE_{NO} a respiración corriente *on-line* y el IPA.

© 2010 SEPAR. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Fraction of Exhaled Nitric Oxide and Asthma Predictive Index in Infants Less Than Two Years-Old

ABSTRACT

Keywords:

Fraction of exhaled nitric oxide

Asthma predictive index

Infants

Introduction: The fraction of exhaled nitric oxide (FE_{NO}) is considered as an indirect marker of eosinophilic inflammation of the airway. In collaborating children the usual method is by a single breath. The impossibility of performing this in non-collaborating children has led to the development of the online and offline tidal breathing technique. The objective of the study has been to analyse the relationship between the multiple breaths online FE_{NO} and the asthma predictive index (API) in children less than 2 years-old.

Material and methods: An observational and cross-sectional study on a consecutive sample of boys and girls between 2 months and 2 years of age, over a period of 4 months. The post-prandial multiple breaths online FE_{NO} and flow spirometry between 40 and 60 ml/s, using a stationary chemiluminescence analyser (CLD 88 sp). The quantitative variables were: age, weight, IgE, eosinophilia, FE_{NO}, flow spirometry. The qualitative variables were: gender, atopic dermatitis, allergic rhinitis, food and medical allergies, family history of asthma and atopy, diagnosis and treatment. The relationship between API and FE_{NO} was analysed using the exact Fisher and Student *t* tests and the level of agreement between API and FE_{NO} using Cohen's Kappa. The relationship between eosinophilia, IgE, atopic dermatitis and FE_{NO} was also studied (exact Fisher and Student *t* tests).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: osardon@euskalnet.net (O. Sardón Prado).

Results: The cohort consisted of 38 patients. The determinations were successfully carried out on 32 (84.21) of the cases. The mean age was 10.9 ± 5.06 months. The cases with a positive API had significantly higher FE_{NO} values than those with a negative API, with a level of agreement between API and FE_{NO} of 0.71.

Conclusions: There is a significant relationship and a good level of agreement between the online tidal breathing FE_{NO} and the API.

© 2010 SEPAR. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

En los últimos años, numerosos estudios han establecido la utilidad de la fracción exhalada del óxido nítrico (FE_{NO}), como marcador subrogado de inflamación eosinofílica de la vía aérea¹. Se ha descrito un incremento de la FE_{NO} en niños asmáticos y una asociación estrecha con la inflamación eosinofílica, medida en la mucosa de la vía aérea de dichos pacientes². Dada su alta capacidad discriminativa se ha utilizado como complemento de la función pulmonar en el diagnóstico de la enfermedad asmática³. Así mismo, se ha utilizado en la monitorización del tratamiento con glucocorticoides inhalados por su alta sensibilidad para detectar cambios en respuesta a las dosis recibidas⁴ y para detectar deterioro de la función pulmonar incluso en ausencia de síntomas respiratorios⁵.

En niños colaboradores la técnica es a respiración única con espiración mantenida entre 6 y 10 segundos. En niños no colaboradores, especialmente en menores de tres años de edad, la medida de la FE_{NO} puede realizarse sin sedación, a respiración corriente, con respiraciones múltiples (RM), mediante sistemas de análisis *on-line* y *off-line*, de acuerdo con las recomendaciones publicadas por la *European Respiratory Society* (ERS) y la *American Thoracic Society* (ATS) en el año 2005⁶. Esta metodología se complementa con animaciones para lograr flujos espiratorios próximos a 50 ml/s. Si no es posible, pueden utilizarse sedación o la determinación en sueño postprandial.

Aunque no es una técnica rigurosamente estandarizada, algunos investigadores^{7,8} han documentado la posibilidad de realizar mediciones *on-line* válidas con RM y flujo constante (40-60 ml/s), mediante ajuste continuo de las resistencias espiratorias durante la exhalación, a través de restrictores automáticos del flujo. Otros autores han empleado la restricción del flujo de forma manual⁹. Daniel et al^{10,11} han determinado la FE_{NO} a RM mediante mascarilla facial, tanto *on-line* como *off-line* y han publicado valores de normalidad en niños entre dos y 7 años con dicha metodología. Los datos obtenidos con sistema *on-line* en niños pequeños mostraron una buena correlación con los obtenidos mediante el método *on-line* a respiración única en niños mayores. De este modo, se ha propuesto utilizar la FE_{NO} como parámetro no invasivo en el diagnóstico, seguimiento de la gravedad y la actividad de la enfermedad, en niños pequeños con episodios de sibilancias recurrentes y asma^{12,13}.

Actualmente no disponemos de marcadores biológicos sensibles y específicos que permitan catalogar a los lactantes con sibilancias recurrentes que van a ser futuros asmáticos atópicos. Para identificar a este grupo de lactantes, Castro-Rodríguez et al^{14,15} propusieron el índice predictivo de asma (IPA). Aquellos lactantes con más de tres episodios de sibilancias o bronquitis obstructivas al año, durante los tres primeros años de vida, que además cumplieran con un criterio mayor o dos criterios menores, los denominaron IPA positivos. Dichos lactantes tienen una sensibilidad del 16%, especificidad del 97%, valor predictivo positivo del 77% y un valor predictivo negativo de 68%, para desarrollar asma. Además, los lactantes con un IPA positivo tuvieron siete veces más riesgo de ser asmáticos en la edad escolar que aquellos con un índice negativo (OR = 7,1; IC 95%: 3,5-14,1). Dada la dificultad para diagnosticar rinitis alérgica en niños pequeños, Guilbert et al¹⁶ modificaron el IPA, añadiendo la sensibilización a uno o más neuroalérgenos como criterio mayor,

y la alergia alimentaria a huevo, leche o frutos secos como criterio menor.

El objetivo de este estudio ha sido estudiar la relación entre la FE_{NO}, determinada *on-line* a respiraciones múltiples y el índice predictivo de asma de Guilbert¹⁶.

Material y métodos

Estudio observacional y transversal de una muestra consecutiva de pacientes entre dos meses y dos años de edad, que acudían por primera vez a consultas externas de Neumología Infantil desde octubre de 2008 a febrero de 2009.

Se ha realizado en todos los casos la determinación de FE_{NO} postprandial con sistema *on-line* y analizador de quimioluminiscencia estacionario, CLD 88 sp (Eco Physics AG), a respiración corriente con RM. Se ha utilizado en todos ellos una máscara facial que separa el flujo de aire procedente de la cavidad oral y nasal (Hans Rudolph Inc, USA[®]), con un flujo espiratorio entre 40 y 60 ml/s⁶. La máscara facial se ha conectado a un filtro antibacteriano y antivirico de un sólo uso. En cada determinación se realizó la media de la FE_{NO} obtenida durante los ciclos respiratorios (inspiración-espiración) realizados por el paciente durante 60 segundos. La FE_{NO} se ha medido al final del ciclo respiratorio, en la fase de meseta estable cuando se ha producido la espiración del 60-80% del volumen total. En todos los pacientes incluidos se han realizado tres determinaciones válidas con un cociente de variabilidad inferior al 10% entre ellas y se ha obtenido la media de las tres. El rango de las determinaciones oscila entre 0,1-5.000 ppb (partes por billón). Las determinaciones se realizaron con aire ambiente libre de NO (< 5 ppb) que evita la contaminación ambiental. Se ha realizado calibración diaria de flujo y volumen que permite verificar la exactitud de la medición de los mismos así como la realización de un ajuste de NO de punto cero. Así mismo, se ha realizado calibración mensual del gas NO. De acuerdo con los estudios publicados^{7,10} se han considerado valores normales de FE_{NO} los comprendidos entre 2 y 8 ppb.

El diagnóstico de sibilancias recurrentes, asma y su gravedad se ha realizado de acuerdo a los criterios establecidos por GINA¹⁷.

Se ha definido:

1. Rinitis alérgica como signos y síntomas compatibles, IgE específica en sangre (clase III o superior) a uno o más aeroalérgenos y/o *prick test* positivo;
2. Sensibilización a uno o más aeroalérgenos por IgE específica en sangre y/o *prick test* positivo;
3. Alergia alimentaria como signos y síntomas compatibles con IgE específica en sangre (clase III o superior); y
4. Dermatitis atópica, por signos y síntomas compatibles^{17,18}.

Como IPA se ha empleado el modificado por Guilbert et al¹⁶. Se ha considerado IPA positivos aquellos lactantes con más de tres episodios de sibilancias o bronquitis obstructivas al año, durante los tres primeros años de vida, que además cumplieran con un criterio mayor o dos criterios menores. Los criterios mayores fueron diagnóstico médico de asma en alguno de los progenitores, diagnóstico médico de dermatitis atópica en los primeros tres años de la vida y/o sensibilización alérgica a uno o más neuroalérgenos. Así

Tabla 1
Características descriptivas de la población a estudio

FE _{NO} medio (ppb) (media ± DE)	11,11 ± 9,38
IgE (KU/L) mediana (rango)	7,09 (1-877)
<i>Eosinofilia en sangre periférica (μL)</i>	
Media ± DE	377,06 ± 302,81
≥ 4% (N) (%)	11 (34,37)
IPA positivo (N) (%)	18 (56,25)
Dermatitis atópica (N) (%)	11 (34,37)
Alergia alimentaria (N) (%)	3 (9,37)
Antecedentes familiares de asma (N) (%)	9 (28,12)
Antecedentes familiares de atopía (N) (%)	13 (40,62)
<i>Diagnóstico</i>	
Sibilancias recurrentes (> 3 episodios) (N) (%)	13 (40,62)
Asma episódica (N) (%)	3 (9,37)
Asma persistente (N) (%)	7 (21,87)
Displasia broncopulmonar (N) (%)	5 (15,62)
Sin evidencia de patología (N) (%)	4 (12,5%)

KU/L: kilounidades por litro; ppb: partes por billón; μL: microlitro.

mismo, se consideraron criterios menores la alergia alimentaria a leche, huevo o frutos secos, sibilancias no asociadas a resfriados en los primeros tres años de la vida y/o eosinofilia en sangre periférica igual o superior al 4%.

Las variables cuantitativas analizadas han sido edad, peso, IgE, eosinofilia, valor FE_{NO} medio y flujo espiratorio. Las variables cualitativas estudiadas han sido sexo, atopía personal (dermatitis atópica, rinitis alérgica, alergia alimentaria y/o alergia medicamentosa), antecedentes familiares de asma (por diagnóstico médico en alguno de los progenitores) y atopía (por diagnóstico médico en alguno de los progenitores de dermatitis atópica, alergia alimentaria y/o medicamentosa), diagnóstico y tratamiento. Se ha estudiado la asociación entre el IPA y la FE_{NO} mediante test exacto de Fisher y *t* de Student. Se ha analizado el grado de acuerdo entre el IPA y la FE_{NO} (categorizada según valores normales) mediante Kappa de Cohen (KC). También se ha analizado la relación entre eosinofilia, IgE, dermatitis atópica y FE_{NO} mediante test exacto de Fisher y *t* de Student.

Dada la escasa información validada y fiable respecto a la metodología y estandarización de la técnica para la determinación de la FE_{NO} en lactantes y su relación con el IPA que nos proporcionara una base para estimar el tamaño muestral necesario, decidimos de forma similar a otros autores^{8,10}, obtener una muestra de tamaño suficiente en términos estadísticos para describir las hipotéticas asociaciones con un mínimo de validez.

En todos los casos se ha establecido un nivel alfa del 5%. Se ha empleado el paquete estadístico SYSTAT 9.0™.

El estudio fue aprobado en el Comité de Ética e Investigación del hospital. En todos los casos se obtuvo el consentimiento informado y el permiso de ambos padres y/o tutores para la explotación científica de los datos obtenidos en formato papel y en Internet en modo universal.

Resultados

Se han estudiado 38 casos, de los cuales 32 (84,21%) realizaron las determinaciones con éxito, con un flujo espiratorio de 58,6 ± 6,9 ml/s. La cohorte analizada (n = 32) se distribuyen en 19 (59,37%) varones y 13 (40,62%) mujeres. La edad media de los incluidos fue de 10,9 ± 5,06 meses. Las características descriptivas de la población a estudio se reflejan en la tabla 1. Ninguno de los incluidos cumplía criterios de rinitis alérgica ni de alergia alimentaria. De los incluidos (n = 32), 24 (75%) no habían recibido ningún tratamiento y 8 (25%) habían recibido tratamiento modificador con antileucotrienos y/o glucocorticoides inhalados en alguna ocasión, habiendo sido retirados al menos 4 semanas antes de realizar la determinación de la FE_{NO}.

Existe asociación significativa entre IPA positivo, eosinofilia, IgE y valor de FE_{NO} superior a la normalidad (p < 0,05). Los pacientes con IPA positivo tenían valores de FE_{NO} significativamente superiores a los IPA negativos (16,31 ± 9,36 vs 4,43 ± 3,13) (media ± DE) (fig. 1). Hubo acuerdo sustancial entre IPA y FE_{NO} (KC = 0,71). Así mismo, los pacientes con valores de FE_{NO} superiores a la normalidad tuvieron valores de IgE total en sangre periférica significativamente superiores (75,9 ± 22,2 vs 6,24 ± 8,17) (p < 0,001). No hubo asociación significativa entre dermatitis atópica y FE_{NO} superior a la normalidad (p = 0,26), ni entre eosinofilia en sangre periférica igual o superior a 400 eosinófilos/μL y FE_{NO} (p = 0,19).

Discusión

La determinación de FE_{NO} *on-line* a respiración corriente con respiraciones múltiples ha sido posible en nuestra serie en el 84,21% de la cohorte estudiada, con un coeficiente de variabilidad inferior al 10%. Así mismo, con la metodología empleada ha sido posible obtener un flujo espiratorio entre 40 y 60 ml/s durante el sueño postprandial. Si consideramos el óxido nítrico exhalado como un marcador indirecto de la inflamación, esta técnica ofrece la posibilidad de mejorar la aproximación diagnóstica en lactantes y preescolares con sibilancias recurrentes y de realizar comparaciones entre individuos o en el propio individuo de forma evolutiva, optimizando el control de su enfermedad y la monitorización de su tratamiento¹².

En nuestra muestra, existe asociación significativa y un buen grado de acuerdo entre la FE_{NO} medida a respiración corriente con respiraciones múltiples y el índice predictivo de asma modificado¹⁶. Además, al igual que lo publicado por otros autores¹², en el grupo que tenía IPA positivo los valores de FE_{NO} obtenidos en nuestro estudio, fueron significativamente mayores a los obtenidos en el grupo con IPA negativo.

Algunos autores han comunicado valores de FE_{NO} superiores en niños menores de 4 años diagnosticados de asma y también en aquellos con IgE positiva para al menos un aeroalérgeno. Sin embargo, tampoco encontraron diferencias significativas entre FE_{NO} y eosinofilia en sangre periférica^{19,20} como en nuestro estudio. Es probable, como señalan algunas publicaciones, que en los dos primeros años de la vida apenas exista inflamación eosinofílica, y que ésta se desarrolle a partir de los tres años de edad estando más claramente establecida a partir de los 5 años²¹. Gabriele et al¹³ obtuvieron valores de FE_{NO} superiores en lactantes atópicos con sibilancias recurrentes en comparación con lactantes sanos o

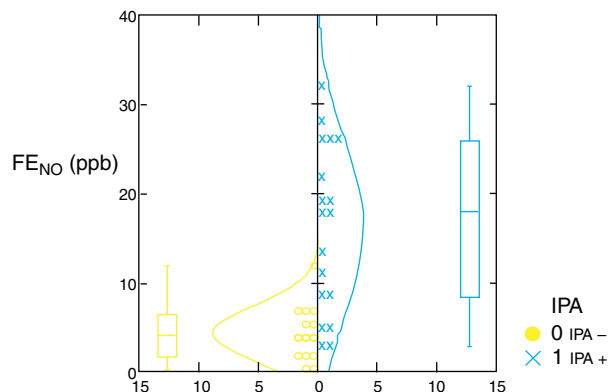


Figura 1. Medida de la asociación entre el índice predictivo de asma y la fracción exhalada de óxido nítrico mediante *t* de Student.

Asociación significativa entre IPA positivo y FE_{NO} superior a la normalidad (p < 0,05). Los pacientes con IPA positivo (azul) tenían valores de FE_{NO} significativamente superiores a los IPA negativos (amarillo) (16,31 ± 9,36 vs 4,43 ± 3,13) (media ± DE). FE_{NO}: fracción exhalada de óxido nítrico; IPA: índice predictivo de asma, ppb: partes por billón.

afectos de fibrosis quística o displasia broncopulmonar. Así mismo, Moeller et al¹² encontraron una FE_{NO} mayor en el grupo de preescolares con mayor número de sibilancias recurrentes, y propusieron la FE_{NO} como método para reflejar la actividad de la enfermedad y para diferenciar subgrupos de pacientes con sibilancias recurrentes o sin ellas. Sin embargo, no encontraron un punto de corte para la FE_{NO} que permitiera calcular la sensibilidad, especificidad y valores predictivos que permitieran predecir el desarrollo de asma en edades posteriores de la vida.

Recientemente de Mir et al²² han descrito en un grupo de niños menores de 4 años de edad un ligero incremento de la FE_{NO} en aquellos con sibilancias recurrentes respecto a los controles sanos, aunque encontraron una amplia superposición de valores en ambos grupos. Así mismo, comunicaron una asociación significativa entre la FE_{NO}, eosinofilia en sangre periférica e IgE total.

Respecto al IPA, Goksoy et al²³ comunicaron que la exposición al humo del tabaco, tanto prenatal como postnatal, aumentaba el riesgo de desarrollar asma entre los 17 y 20 años de edad, con un OR de 3,5 (IC 95%: 1,1-11,3) y 3,4 (IC 95%: 1,2-10,1) respectivamente. También Piippo-Savalainen et al²⁴ observaron que el tabaquismo familiar y especialmente el tabaquismo materno, se comportaba como criterio mayor en el índice predictivo de asma de lactantes con sibilancias recurrente. En nuestro estudio, no se ha estudiado el tabaquismo familiar como variable cualitativa, motivo por el que no podemos aportar datos al respecto. Otra cuestión es la dificultad para diagnosticar rinitis alérgica en el grupo de edad estudiado, variable incluida como criterio menor en el IPA de Castro Rodríguez et al¹⁴. Este es el motivo por el que hemos utilizado el IPA modificado por Guilber et al¹⁶, que incluye la sensibilización a neuroalérgenos como criterio mayor y la alergia alimentaria como criterio menor.

Una de las limitaciones principales de nuestro estudio es que no existe en la actualidad una estandarización adecuada de la técnica para la determinación de la FE_{NO} *on-line* a respiración corriente con RM en lactantes y preescolares no sedados, y por lo tanto, los valores de normalidad y los resultados obtenidos por los distintos autores dependen de la metodología utilizada^{7-9,11,22,25}. Otra de las limitaciones del estudio es que se trata de una muestra limitada, y por tanto, se necesitan mayor número de estudios poblacionales que corroboren nuestros resultados.

En nuestra cohorte, aunque la IgE y la FE_{NO} siguen una distribución prácticamente normal, además de la *t* de student se ha realizado el análisis estadístico con la *U* de Mann-Whitney para variables no paramétricas, sin hallar diferencias en los resultados obtenidos.

Actualmente no hay un único parámetro que pueda predecir en lactantes o preescolares con síntomas respiratorios el riesgo para desarrollar asma en edades posteriores del crecimiento y del desarrollo²⁶⁻²⁸. Además, los fenotipos inflamatorios que presentan los lactantes con sibilancias recurrentes pueden mantenerse, coexistir o cambiar a lo largo de la evolución de la enfermedad. Por tanto, la historia clínica, la exploración física, la función pulmonar²⁹ y algunas pruebas subrogadas del patrón inflamatorio que presenta el paciente en un momento determinado, como es la determinación de la FE_{NO}, pueden facilitar la aproximación a un diagnóstico más certero y a un tratamiento más específico de la patología recurrente de la pequeña vía aérea en el lactante³⁰. La posibilidad de determinar la FE_{NO} *on-line* de forma rápida, inocua y con garantías de validez y reproductibilidad, mejora significativamente el manejo clínico habitual de los pacientes con episodios de sibilancias recurrentes moderados o graves en la práctica clínica diaria, lo que facilita un tratamiento más individualizado, su monitorización y la evaluación de la gravedad de los síntomas en distintas fases de la enfermedad.

En resumen, podemos señalar que en nuestra muestra y con la metodología descrita, existe asociación significativa y un buen

grado de acuerdo entre la FE_{NO} y el índice predictivo de asma. Así mismo, la determinación de FE_{NO} *on-line* ha sido posible en niños pequeños no sedados con un flujo espiratorio entre 40 y 60 ml/s durante el sueño postprandial.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Cobos Barroso N, Pérez-Yarza EG, Sardón Prado O, Reverté Bover C, Gartner S, Korta Murua J. Óxido nítrico exhalado en niños: un indicador no invasivo de la inflamación de las vías aéreas. Arch Bronconeumol. 2008;44:41-51.
- Taylor DR, Pijnenburg MW, Smith AD, De Jongste JC. Exhaled nitric oxide measurements: clinical application and interpretation. Thorax. 2006;61:817-27.
- Pijnenburg MW, De Jongste JC. Exhaled nitric oxide in childhood asthma: a review. Clin Exp Allergy. 2008;38:246-59.
- Smith AD, Cowan JO, Brassett KP, Herbison GP, Taylor DR. Use of exhaled nitric oxide measurements to guide treatment in chronic asthma. N Engl J Med. 2005;352:2163-73.
- Pijnenburg MW, Bakker EM, Hop WC, De Jongste JC. Titrating steroids on exhaled nitric oxide in children with asthma. Am J Respir Crit Care Med. 2005;172:831-6.
- ATS/ERS Recommendations for Standardized Procedures for the Online and Offline Measurement of Exhaled Lower Respiratory Nitric Oxide and Nasal Nitric Oxide, 2005. Am J Respir Crit Care Med. 2005;171:912-30.
- Buchvald F, Bisgaard H. FE_{NO} measured at fixed exhalation flow rate during controlled tidal breathing in children from the age of 2 yr. Am J Respir Crit Care Med. 2001;163:699-704.
- Silkoff PE, Bates CA, Meiser JB, Bratton DL. Single-breath exhaled nitric oxide in preschool children facilitated by a servo-controlled device maintaining constant flow. Pediatr Pulmonol. 2004;37:554-8.
- Baraldi E, Scollo M, Zaramella C, Zanconato S, Zacchello F. A simple flow-driven method for online measurement of exhaled NO starting at the age of 4 to 5 years. Am J Respir Crit Care Med. 2000;162:1828-32.
- Daniel PF, Klug B, Valerius NH. Measurement of exhaled nitric oxide in young children during tidal breathing through a facemask. Pediatr Allergy Immunol. 2005;16:248-53.
- Daniel PF, Klug B, Valerius NH. Exhaled nitric oxide in healthy young children during tidal breathing through a facemask. Pediatr Allergy Immunol. 2007;18:42-6.
- Moeller A, Diefenbacher C, Lehmann A, Rochat M, Brooks-Wildhaber J, Hall GL, et al. Exhaled nitric oxide distinguishes between subgroups of preschool children with respiratory symptoms. J Allergy Clin Immunol. 2008;121:705-9.
- Gabriele C, Nieuwhof EM, Van Der Wiel EC, Hofhuis W, Moll HA, Merkus PJ, et al. Exhaled nitric oxide differentiates airway diseases in the first two years of life. Pediatr Res. 2006;60:461-5.
- Castro-Rodríguez JA, Holberg CL, Wrigth AL, Martínez FD. A Clinical Index to define risk of asthma in young children with recurrent wheezing. Am J Respir Crit Care Med. 2000;162:1403-6.
- Castro-Rodríguez JA. ¿Cómo evaluar el riesgo de asma bronquial en lactantes y preescolares? Arch Bronconeumol. 2006;42:453-6.
- Guilbert TW, Morgan WJ, Zeiger RS, Bacharier LB, Boehmer SJ, Krawiec M, et al. Atopic characteristics of children with recurrent wheezing at high risk for the development of childhood asthma. J Allergy Clin Immunol. 2004;114:1282-7.
- Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention Updated 2009. Available at: <http://www.ginasthma.com>.
- Bacharier LB, Boner A, Carlsen KH, Eigenmann PA, Frischer T, Götz M, Helms PJ, et al., European Pediatric Asthma Group. Diagnosis and treatment of asthma in childhood: a PRACTALL consensus report. Allergy. 2008;63:5-34.
- Brussee JE, Smit HA, Kerkhof M, Koopman LP, Wijga AH, Postma DS, et al. Exhaled nitric oxide in 4-year-old children: relationship with asthma and atopy. Eur Respir J. 2005;25:455-61.
- Visser MJ, de Wit MC, van Aalderen WM, Postma DS, Brand PL. Exhaled nitric oxide in children measured by tidal breathing method: differences between asthmatics and nonasthmatic controls. Pediatr Pulmonol. 2000;29:434-7.
- Saglani S, Payne DN, Zhu J, Wang Z, Nicholson AG, Bush A. Early detection of airway wall remodeling and eosinophilic inflammation in preschool wheezers. Am J Respir Crit Care Med. 2007;176:858-64.
- de Mir Messa I, Moreno Galdó A, Cobos Barroso N, Gartner S, Martín de Vicente C, Liñán Cortés S. Óxido nítrico exhalado en niños menores de 4 años con bronquitis de repetición. Arch Bronconeumol. 2009;45:442-8.
- Goksoy E, Amark M, Alm B, Gustafsson PM, Wennergren G. The impact of pre- and post-natal smoke exposure on future asthma and bronchial hyper-responsiveness. Acta Paediatr. 2007;96:1030-5.
- Piippo-Savolainen E, Korppi M. Wheezy babies-wheezy adults? Review on long-term outcome until adulthood after early childhood wheezing. Acta Paediatr. 2008;97:5-11.
- Van Mastrigt E, Gabriele C, de Jongste JC. Exhaled nitric oxide in infants-What is a nice test like FENO doing in a place like this? Semin Respir Crit Care Med. 2007;28:264-71.

26. Ochoa Sangrador C, González de Dios J. Grupo de Revisión del Proyecto aBREVIAado (BRonquiolitis-Estudio de Variabilidad, Idoneidad y Adecuación). Conferencia de consenso sobre bronquiolitis aguda (VI): pronóstico en la bronquiolitis aguda. Revisión de la evidencia científica. *An Pediatr (Barc)*. 2010;72:354.e1–e34.
27. Ochoa Sangrador C, González de Dios J, Grupo de Revisión del Proyecto aBREVIAado (BRonquiolitis-Estudio de Variabilidad, Idoneidad y Adecuación). Conferencia de consenso sobre bronquiolitis aguda (II): epidemiología de la bronquiolitis aguda. Revisión de la evidencia científica. *An Pediatr (Barc)*. 2010;72:222.e1–e26.
28. Ochoa Sangrador C, González de Dios J, Grupo de Revisión del Proyecto aBREVIAado (BRonquiolitis-Estudio de Variabilidad, Idoneidad y Adecuación). Conferencia de consenso sobre Bronquiolitis Aguda (III): diagnóstico en la bronquiolitis aguda. Revisión de la evidencia científica. *An Pediatr (Barc)*. 2010;72:284.e1–e23.
29. Pérez-Yarza EG, Villa JR, Cobos N, Navarro M, Salcedo A, Martín C, et al. Espirometría forzada en preescolares sanos bajo las recomendaciones de la ATS/ERS: estudio CANDELA. *An Pediatr (Barc)*. 2009;70:3–11.
30. Majid H, Kao C. Utility of exhaled nitric oxide in the diagnosis and management of asthma. *Curr Opin Pulm Med*. 2010;16:42–7.